动 物 学 研 究 2013，Aug. 34(4): 392−398 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.4.0392

怒江流域多鳞荷马条鳅（*Homatula pycnolepis*）种群年龄结构与遗传多样性

岳兴建[1,2]，刘绍平[2]，刘明典[2]，段辛斌[2]，汪登强[2]，陈大庆[2,*]

1. 内江师范学院 生命科学学院，长江上游鱼类资源保护与利用四川省重点实验室，四川 内江 641000
2. 中国水产科学研究院长江水产研究所，湖北 武汉 430223

摘要：该文于 2008 年 4 月采自南定河支流小勐统河的多鳞荷马条鳅（*Homatula pycnolepis*）群体（204 尾，年龄仅为 1~2 龄，缺乏≥3 龄个体，年龄结构简单）；2007—2009 年采自怒江流域 4 个采样点的多鳞荷马条鳅群体（80 尾）的 *Cyt b* 基因与群体遗传多样性及遗传结构分析共发现 44 个多态位点，仅定义 4 个单倍型，总体单倍型多样性（*Hd*）及核苷酸多样性（*Pi*）分别为 0.7595 及 0.015，而怒江流域各采样点群体的 *Hd 及 Pi* 均为 0，显示各地理群体遗传多样性丧失。怒江区域组、南定河组群体之间遗传分化明显，遗传距离为 0.0356，组间分隔时间较久。由于被分离为小种群且面临较大捕捞压力，怒江多鳞荷马条鳅种群遗传多样性丧失，种群年龄结构简单，且怒江区域、南定河区域及澜沧江流域种群应被作为不同遗传管理单元而进行种群管理。

关键词：怒江；多鳞荷马条鳅；年龄结构；遗传多样性；细胞色素 *b*
中图分类号：Q959.46+8 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)04-0392-07

Age structure and genetic diversity of *Homatula pycnolepis* in the Nujiang River basin

Xing-Jian YUE[1,2], Shao-Ping LIU[2], Ming-Dian LIU[2], Xin-Bin DUAN[2], Deng-Qiang WANG[2], Da-Qing CHEN[2,*]

1. *College of Life Sciences, Neijiang Normal University; Key Laboratory of Sichuan Province for Fishes Conservation and Utilization in the Upper Reaches of the Yangtze River, Neijiang,* 641000, *China*
2. *Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan, Hubei Province* 430223, *China*

Abstract: This study examined the age structure of the Loach, *Homatula pycnolepis* through the otolith growth rings in 204 individual specimens collected from the Xiaomengtong River of the Nujiang River (Salween River) basin in April, 2008. There were only two different age classes, 1 and 2 years of age—no 3 year olds were detected. The age structure of *H. pycnolepis* was simple. The complete mitochondrial DNA cytochrome *b* gene sequences (1140) of 80 individuals from 4 populations collected in the Nujiang River drainage were sequenced and a total of 44 variable sites were found among 4 different haplotypes. The global haplotype diversity (*Hd*) and nucleotide diversity (*Pi*) were calculated at 0.7595, 0.0151 respectively, and 0, 0 in each population, indicating a consistent lack of genetic diversity in each small population. There was obvious geographic structure in both the Nujiang River basin (NJB) group, and the Nanding River (NDR) group. The genetic distance between NJB and NDR was calculated at 0.0356, suggesting that genetic divergence resulted from long-term isolation of individual population. Such a simple age structure and a lack of genetic diversity in *H. pycnolepis* may potentially be due to small populations and locale fishing pressures. Accordingly, the results of this study prompt us to recommend that the NJB, NDR and Lancang River populations should be protected as three different evolutionary significant units or separated management units.

Keywords: Nujiang River; *Homatula pycnolepis*; Age structure; Genetic diversity; Cytochrome *b*

荷马条鳅属（*Homatula* Nichols 1925)鱼类因尾柄上下缘具鳍褶而被列入副鳅属（*Paracobitis*

收稿日期：2013-02-25；接受日期：2013-05-28
基金项目：环境保护部项目(EPA4261)；农业部长江中上游渔业资源环境重点野外科学观测试验站开放课题(YWTZ/1006)；内江市科学技术知识产权局科技支撑计划项目(11028)
*通信作者(Corresponding author)，E-mail: chdq@yfi.ac.cn

Bleeker 1863）。国内、外学者认为中国副鳅属鱼类应属荷马条鳅属，目前包括 11 个有效种（Gu & Zhang, 2012; Hu & Zhang, 2010）。根据与拟鳗荷马条鳅（*H. anguillioides*）消化道及头部骨骼等性状差异建立的新种多鳞荷马条鳅（*H. pycnolepis*）分布于澜沧江水系的漾濞、瓦窑及云龙县（Chu & Chen,1989；Chen, 1998；Fu et al,2008；Min et al, 2012; Zhu,1989； Zhou & He,1993）等。2007—2008 年的水生生物资源调查于怒江水系下游多条支流中采集到多鳞荷马条鳅，Min et al（2012）亦发现怒江流域有该种分布。该种个体较大（记录最大体长 134 mm），体色鲜艳，栖息于多水草缓流水体（Chu & Chen,1989；Zhu, 1989），局部水域数量较多，可作为观赏鱼类开发，有一定渔业价值。荷马条鳅属鱼类多数种群数量大，连续分布，年龄结构较复杂。目前，已有种群遗传学研究表明其较高的物种多样性（Guo，2009; Zhou et al, 2007）。而多鳞荷马条鳅渔业捕捞强度大，资源破坏严重，在怒江流域(包括怒江区域和南定河区域)各分布点形成隔离的小种群，亟待保护。本研究通过对其南定河支流小勐统河种群年龄结构以及怒江流域种群遗传状况的分析，了解其种群资源现状，为其保护及管理提供依据。

1　材料与方法

1.1　实验材料

本实验所有材料采自怒江下游支流万马河（怒江一级支流）、湾甸河（怒江二级支流）、永德（德党河，怒江三级支流）及小勐统河（南朋河，怒江水系南定河区域三级支流,凤尾河上游）。年龄结构研究群体 204 尾样本于 2008 年 4 月采自永德县小勐统河（表 1，图 1）（图 1 方框为 Min et al（2012）提供的采样点）。新鲜样本于 2008 年 4 月采自小勐统河，现场测定体长、体重，部分解剖鉴定雌、雄，并摘取矢耳石作为年龄材料。遗传研究样本经鉴定后剪取鳍条或肌肉，保存于 100%乙醇备用。

表 1　多鳞荷马条鳅样本采集信息

Table 1　Sampling information of *H. pycnolepis*

序号 Serial no.	地点 Sample site	分布区域 Region	经纬度 Location	海拔 Elevation	采样时间 Date	遗传分析样本（*n*） Genetic analysis specimen	年龄分析样本（*n*） Age analysis specimen
1	万马河（潞西市）	怒江	N24°9'；E98°39'	800	2007.5	20	—
2	德党河（永德县）	怒江	N24°2'；E99°17'	1 280	2008.4	20	—
3	湾甸河（昌宁县）	怒江	N24°37'；E99°22'	910	2008.4	20	—
4	小勐统河(永德县）	南定河	N24°8'；E99°16'	1 380	2008.4	20	204
合计 Total						80	204

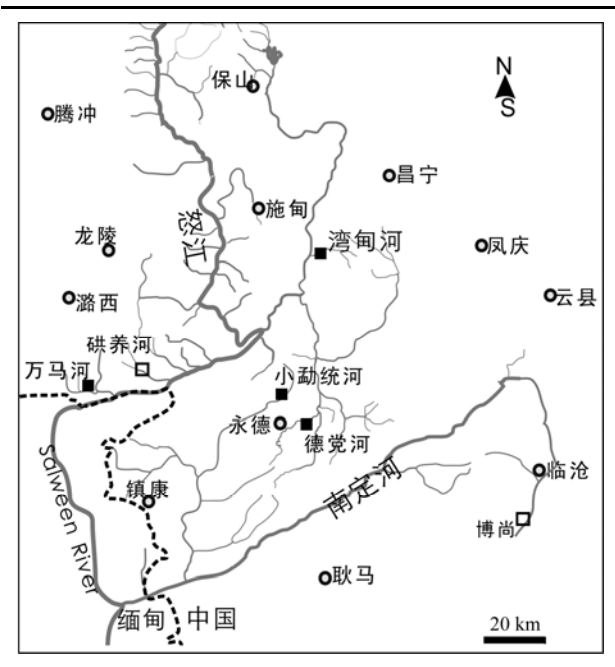


图 1　多鳞荷马条鳅采样点分布图

Figure1　Sampling sites of *H. pycnolepis*

1.2　年龄结构分析

由于采自小勐统河以外的其它群体个体长度范围较小（最大体长 140 mm且大个体比例低），数量通常为数十尾，因此，选择小勐统河群体进行年龄结构分析。以W=aL^b拟合体长、体重关系（W为体重（g），L为体长（mm），a、b为回归分析估算常数及指数），并通过Excel表格获得体长、体重散点分布图。耳石去除附着物后清洗干净，用中性树胶固定于载玻片上，烘干后以 2000$^{\#}$砂纸打磨，并随时在解剖镜下观察，磨至接近中心处时换 5000$^{\#}$砂纸打磨抛光，然后换另一面磨至耳石生长中心，二甲苯透明处理,中性树胶封片后在显微镜（ Motic BA400）下观察并读取年龄。

1.3　遗传多样性分析

1.3.1　总 DNA 提取

取尾鳍样品~0.05 g，剪碎后双蒸水洗去酒精；加入 500 μL HOM 缓冲液（80 mmol/L EDTA，100

mmol/L Tris，0.5% SDS ）及 10 μL（10 mg/mL）蛋白酶 *K*，于 55 ℃恒温箱消化~3 h，至组织消化完全；高盐法提取总 DNA（Aljanabi & Martinez, 1997）。

1.3.2 *Cyt b* 序列的 PCR 扩增与测序

扩增引物为L14724: 5'-GACTTGAAAAAC-CACCGTTG-3' 及 H15915: 5′-CTCCGATCTCCG-GATTACAAGAC -3′（Xiao et al, 2001）。PCR反应总体积为 50 μL，其中，10×Buffer（含Mg^{2+}）5 μL、*Taq* DNA聚合酶 2 U、dNTP（10 mmol/L） 0.4 μL、引物L14724（10 μmol/L）和H15915（10 μmol/L）各 2 μL、模板DNA 0.5 μL、及灭菌蒸馏水 39.7 μL。PCR扩增反应在C1000 型PCR扩增仪（Bio-Rad公司） 上进行，反应程序为：94 ℃预变性 4 min；94 ℃变性 40 s，55 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 90 s，共 35 个循环；72 ℃延伸 8 min。PCR产物用 0.8%琼脂糖凝胶检测，由北京利嘉泰成科技有限公司使用正反引物双向测序。

1.3.3 数据分析

使用Lasergene v7.0 软件包对测序结果进行拼接。序列对位排列由Clustal X（Thompson，1997）完成。使用Dnasp v5.0 获得单倍型分布数据（Librado & Rozas，2009），计算变异位点、简约信息位点及单倍型数目（number of haplotypes）等。应用Arlequin v3.5 软件（Excoffier et al, 2010）计算单倍型多样性（*Hd*）及核苷酸多样性（*pi*），根据pairwise difference 模型，计算种群（组）间的分化指数值并进行分子方差分析（AMOVA）。从GenBank下载已发表怒江流域多鳞荷马条鳅数据（Min et al，2012；登录号分别为HM010490、HM010491、HM010501、HM0105523、HM010506、HM010552、HM010566 及HM010567），合并分析单倍型之间的遗传关系。用MEGA5.1 软件（Tamura et al, 2011）中的Kimura 2-papamter模型计算遗传距离，采用Kimura 2-papamter距离矩阵，加入澜沧江流域数据（50 个体共享一个单倍型，序列同登陆号JN837646、JN837647、JN837648、JN837649、JN837662、HM010554、HM010555 及 HM010556 等 8 条序列），以拟鳗荷马条鳅（HM010546）、红尾荷马条鳅（红尾副鳅（*Paracobitis variegatus*），登录号HM010600）为外群，用邻接法（NJ）构建单倍型分子系统树，节点自举置信水平应用自引导（Bootstrap）估计，循环验证次数为 1 000。使用Network4.6 程序（Bandelt et al, 1999）构建中介网络图（median-joining network），调查单倍型间的进化关系。

2 结果

2.1 年龄结构、体长及体重

根据采自小勐统镇的 204 尾多鳞荷马条鳅耳石轮纹的镜检分析，204 尾标本由 1~2 龄两个年龄组组成，1 龄个体 172 尾，体长 75.0~118.5 mm，平均（99.20±9.41）mm，体重 5.7~17.4 g，平均（10.72±2.78）g，占渔获物的 84.31%。2 龄个体 32 尾，体长（134.5~164.4）mm，平均（152.13±8.15）mm，体重 24.9~42.0 g，平均（34.76±4.89）g，占渔获物的 15.69%（表 1）。204 尾个体体长、体重散点分布图形成两组，分别为 1 龄、2 龄组（图 2），年龄结构简单。体长、体重拟合曲线方程为 $W=3.4499\times 10^{-5}L^{2.7469}$（$n$=204，$R^2$=0.9762）。

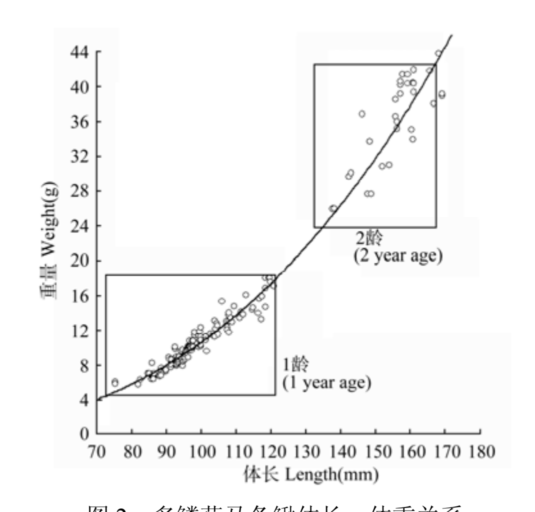


图 2 多鳞荷马条鳅体长、体重关系

Figure 2 Correlation of body length and weight of *H. pycnolepis* individuals

表 2 多鳞荷马条鳅体长、体重与年龄结构

Table 2 Body length, weight, and age structure of *H. pycnolepis*

年龄 Age	体长（mm） Body length	平均体长（mm） Mean body length	体重（g） Weight	平均体重（g） Mean weight	数量（*n*）及比例（%） Number and percentage.
1	75.0~118.5	99.20±9.41	5.7~17.4	10.72±2.78	172, 84.31%
2	134.5~164.4	152.13±8.15	24.9~42.0	34.76±4.89	32, 15.69%
总计 ggregate	75.0~164.4	107.50±21.38	5.7~42.0	14.49±9.33	204

2.2　种群遗传结构

2.2.1　种群单倍型及地理分布

多鳞荷马条鳅 *cyt b* 基因全长 1 140 bp。所有检测的多鳞荷马条鳅 80 尾分子样本中定义了四个单倍型（GenBank 登录号：KF040997-KF041000），44 个多态位点（表 3），均为简约信息位点。其中 Hap1 来自于怒江下游支流万马河，Hap2、Hap3 分别来自于怒江下游勐统河支流的二级支流德党河、湾甸河，Hap4 来自于 Salween 江支流南定河的小勐统河上游。添加 GenBank 已发表怒江流域多鳞荷马条鳅数据后，共获得 9 单倍型，57 个多态性位点，其中 20 个单一信息位点，37 个简约信息位点，增加了 13 个位点：114、198、405、408、612、696,、727、885、972、1 087、1 089、1 090 及 1 098（表 3）。

表 3　多鳞荷马条鳅单倍型地理分布及变异位点

Table 3　Haplotype geographical distributions and variable nucleotide sites of *H. pycnolepis*

单倍型 Hap Group	样本 No. of specimen	单倍型分布 Haplotype geographical distributions	单倍型变异位点 Variable nucleotide sites						备注
			2571111111 8480015579 2643648	2233333444 2803456006 8293840582	4444555566 7789112701 6768362992	6666777777 2389233455 4376758536	7788999999 7828113567 1455280802	9911111 7800000 9188999 79058	
Hap_1	20	万马河 WMR	TGCACAATCA	GTCGAATGTG	TTGATTGCAG	GGCCGTCTGT	GCAAATTCCC	GGCAGAA	KF040997
Hap_2	20	德党河 DDR	....	.C....C...	C.........	.A......A.	....	....	KF040998
Hap_3	20	湾甸河 WDR	....	A.....C...	C.........	.A......A.	....G.....	....	KF040999
Hap_4	20	小勐统河 XMTR	CATGT.GCT.	..TAGGC..A	CCAGCCAAG.	AAT..CTCAC	ATT..CCAA.	AA...T.	KF041000
Hap_5	1	龙陵（硔养河）	.........G	........C.	C........A	.A..A...A.	...G.....A	..T.A.G	HM010490
Hap_6	1	龙陵（硔养河）	.........G	........C.	C........A	.A..A...A.	...G.....A	......G	HM010491
Hap_7	1	龙陵（硔养河）	.........G	........C.	C........A	.A..A...A.	...G.....A	...G..G	HM010569（Min et al,2012）
Hap_8	1	龙陵（硔养河）	.........G	........C.	C........A	.A..A...A.	...G.....A	....A.G	HM010566（Min et al,2012）
Hap_9	4	临沧（博尚，南定河）	CATGTG.CT.	...A.GCA.A	CCAG.CAGGA	AATT.CT.AC	A.T..CCAA.	.....T.	HM010567，HM010552，HM0105523，HM010501（Min et al,2012）

位点上方数字表示序列排列位置。

Numbers above each site refer to the position within the aligned sequences.

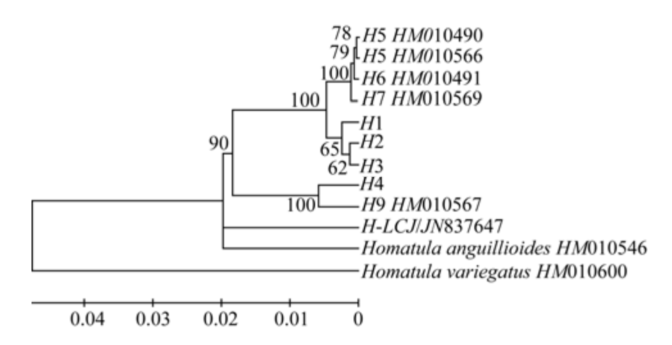


图 3　多鳞荷马条鳅 9 个单倍型的 NJ 树

Figure 3　NJ molecular phylogenetic tree of *H. pycnolepis* haplotypes

单倍型代码同表 3，节点上数据表示支持率。

Haplotype codes are the same as those used in Table 3 and the number on the node denotes the supporting percentage.

2.2.2　种群遗传多样性和遗传分化

多鳞荷马条鳅 80 尾样本中总 *Hd* 和 *Pi* 分别为 0.7595±0.0077 及 0.0151±0.0075，单倍型多样性水平较高，但各支流种群 *Hd*、*Pi* 均为 0，显示各小种群遗传结构简单，遗传多样性低。根据单倍型分子系统树将怒江区域三个支流群体与南定河区域小勐统河群体分为两组（NJB 及 NDR）。则怒江区域组 *Hd* 和 *Pi* 分别为 0.6780±0.0112 及 0.0028±0.0016，而南定河组的小勐统河群体均为 0（表 4）。

NJ 树显示南定河区域（Hap4、Hap9）组与怒江区域组（Hap1~3、Hap5~8）间存在较大分歧，来自澜沧江的一个单倍型（H-LCJ）则另外形成一个分支 （图 3）。Network 拓扑图显示 Hap1~3 单倍型之间突变步数较少（3~6 步），Hap5~8 之间也仅 1~3 步，怒江区域单倍型之间突变步数最大（13 步），而 Hap9 及 Hap4 与 mv1 之间的突变步数分别为 33 及 37 步。单倍型网络图显示有多个中间单倍型丢失（图 4）。怒江区域组与南定河组之间的平均遗传距离为 0.0356±0.0055（表 4）。

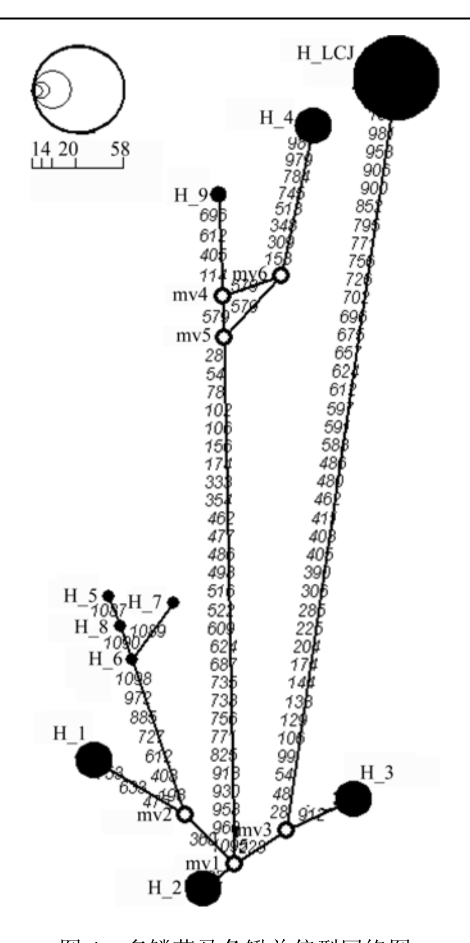


图 4 多鳞荷马条鳅单倍型网络图

Figure 4 Haplotype network of *H. pycnolepis*

连接线上的数字表示突变位点。

Numbers on the link line show the mutational sites.

根据上述分组进行AMOVA分析显示种群内F_{ST}为 1.0000，组内种群间的遗传分化指数F_{SC}=1.0000，不同组间的种群遗传分化指数F_{CT}=0.8814。种群分子遗传变异主要来源于不同组间，组间变异 88.14%，遗传分化大。组内种群间差异较小，变异为 11.86%，各群体内部个体间无差异（变异为 0）（表 5）。

3 讨 论

3.1 种群年龄结构特点及影响因素

过度捕捞可能是导致多鳞荷马条鳅种群年龄结构简单的主要因素。尽管小型鳅科鱼类种群多数年龄结构简单，但由于个体较小，捕捞压力并不大，因此，年龄结构通常包括≥3 个年龄组，如青衣江段红尾荷马条鳅（*H. variegate*）（又名红尾副鳅（*Paracobitis variegatus*））年龄可分为五个龄组,其渔获物年龄结构为 3~5 龄（Zhou et al, 2007），大宁河红尾荷马条鳅为 2~6 龄（Guo et al，2008），而细尾高原鳅（*Triplophysa stenura*）则为 7~14 龄（Deng et al，2010）。尽管选择体长范围最大的小勐统河群体为年龄结构代表群体，多鳞荷马条鳅种群年龄结构仍然以 1~2 龄为主，且 2 龄个体也仅为 15.69%，未见 3 龄个体。不仅采自小勐统河的 204 尾样本如此，在怒江和澜沧江的多数采样点也均如此，且 2 龄个体更少见。多鳞荷马条鳅生长迅速，2 龄个体

表 4 多鳞荷马条鳅单倍型数量、单倍型多样性、核苷酸多样性和遗传距离

Table 4 Haplotype numbers and diversity (*Hd*), nucleotide diversity (*Pi*), and genetic distances (Dxy) of *H. pycnolepis*

群体 Population		单倍型数量 Haplotype numbers		单倍型多样性 *Hd*		核苷酸多样性 *Pi*		遗传距离 Dxy
Group1:NJB（怒江区域 Nujiang River group）	WMR	1	3	0	0.6780±0.0112	0	0.0028± 0.0016	NJB-NDR: 0.0356± 0.0055
	DDR	1		0		0		
	WDR	1		0		0		
Group2:NDR（南定河/小勐统河 Nanding River group）	XMTR	1	1	0	0	0	0	
合计Total			4		0.7595±0.0077		0.0151±0.0075	

表 5 多鳞荷马条鳅种群间遗传差异的分子方差分析（AMOVA）

Table 5 Molecular variance (AMOVA) analysis of *H. pycnolepis* populations

变异来源 Source of variations	自由度 *df*	方差平方和 Sum of squares	变异组成 Variance components	变异百分比 Percentage of variation	固定指数 *F*-Index	显著性检验 *P*-value
组间 Among groups	1	566.67	17.33Va	88.14	F_{CT}=0.8814	＞0.05
种群间 Among populations						
组内种群间 Within groups	2	93.33	2.33 Vb	11.86	F_{SC}=1.0000	≤0.01
种群内 Within populations	76	0	0 Vc	0	F_{ST}=1.0000	≤0.01
Total	79	660.00	19.67			

较大（134.5~164.4 mm，24.9~42.0 g），具有较好经济价值，往往生活在流量较小，水草丰茂，底栖动物资源丰富的溪流中（Zhu，1989），如上述几个采样点。这些小溪流在枯水季节（旱季）流量往往低于 1 m^3/s的小溪流，易于捕获，当地居民常使用小型工具（如撮箕）捕捞，甚至电捕、毒鱼也屡见不鲜，导致高龄个体稀少，因此，未见≥3 龄个体。

3.2　种群遗传多样性特点及影响因素

怒江流域多鳞荷马条鳅形成分隔的小种群且各小种群遗传多样性低。通常，小型鱼类种群种群数量大、分布广，且遗传多样性较丰富，如拟硬刺高原鳅（*Triplophysa pseudoscleroptera*）（28 单倍型，*Hd*=0.65~0.89，*Pi*=0.0010~0.0025）（Yang et al，2011），大宁河红尾荷马条鳅（10 单倍型，*Hd*=0.922，*Pi*=0.00250）（Guo, 2009），贝氏高原鳅（*Triplophysa bleekeri*）（41 单倍型，多样性数据未显示但各群体多样性较大）（Tao, 2009），居氏银鱼（*Salanx cuvieri*）（28 单倍型，*Hd*=0.967，*Pi*=0.006）（Si et al，2012）。而多鳞荷马条鳅仅局限于怒江流域的少数支流，尽管其总体 *Hd* 和 *Pi* 分别为 0.7595 及 0.0151，但样本中各小群体遗传多样性简单，均仅有一个单倍型，遗传多样性丧失。临沧（临沧市临翔区博尚镇，Min 提供）四个体获得 1 单倍型（Hap9），可能也提示该群体仅有 1 单倍型。龙陵的四个样本 4 个单倍型（Hap5~8）（Min et al，2012），根据 Min 所提供的采样点（硔养河），我们在该支流未采集到样本，但该支流流量也较小，是否种群较大尚需核实。怒江流域多鳞荷马条鳅各地理类群仅 1 个单倍型的情况和怒江下游支流分布的光唇裂腹鱼、保山裂腹鱼等情况类似，原因首先可能是多鳞荷马条鳅生境为小溪流，个体较大，易于捕捞，当地居民滥渔、酷渔，导致种群萎缩，资源下降；其次可能是环境污染、水工建设等导致怒江下游生境片段化，形成分离的小种群，使得种群遗传结构简单（Yue et al，2010）。Hap1~3 之间突变步数较少，网络图显示多个单倍型丢失，这种情况和怒江流域分布的光唇裂腹鱼、贡山裂腹鱼的情况类似，可能是因为种群历史上经历较复杂事件，分离为小种群，种群萎缩，单倍型丢失（Yue et al, 2010）。

多鳞荷马条鳅在怒江区域、南定河及澜沧江流域之间的种群遗传分化大。怒江流域多鳞荷马条鳅分布范围主要为怒江下游支流，但其分布范围狭窄，仅为下游几条支流中海拔 800~1 400 m 的河段。种群隔离导致的遗传分化可能由水系分隔等自然因素所导致，目前已知多鳞荷马条鳅分布于海拔 800 m 以上，而勐波罗河、万马河及南定河河口海拔分别为 600 m，550 m 及 450 m，低海拔支流河口可能是种群之间迁移的障碍之一，而澜沧江流域与怒江流域群体的分离时间则更早。

3.3　多鳞荷马条鳅资源保护

由于缺乏合理的资源管理及保护措施，多鳞荷马条鳅种群年龄结构简单，遗传多样性丧失，且资源量较低，应采取科学、严格的管理措施，加强其种群资源保护。过度捕捞、酷渔等严重破坏了该种群的结构和资源量，不利于资源的可持续利用，因此，当地渔业部门应在所有目前已查清的多鳞荷马条鳅分布区域限制甚至禁止捕捞，以尽可能保护种群及遗传资源。相对其它鳅科鱼类，多鳞荷马条鳅个体较大，2 龄个体体长可达 164.4 mm，具有明显经济价值及观赏价值，应在水工建设过程中采取人工繁殖进行开发并增殖放流。另外，怒江区域、南定河区域群体以及澜沧江群体之间种群遗传距离较大，存在遗传差异，是长期遗传隔离的结果，因此，在实施保护措施过程中要分别作为不同进化显著单元进行管理以保护物种完整性（Alpers *et al*, 2004; Mccauley , 1991），防止遗传渗透。

参考文献：

Aljanabi SM, Martinez I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR- based techniques. *Nucleic Acids Research,* **25**(22): 4692-4693.

Alpers DL, van Vuuren BJ, Arctander P, Robinson TJ. 2004. Population genetics of the roan antelope (*Hippotragus equinus*) with suggestions for conservation. *Molecular Ecology,* **13**(7): 1771-1784.

Bandelt H, Forster P, Rohl A. 1999. Median joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution,* **16**(1): 37-48.

Chen YY. 1998. The Fishes of the Hengduan Mountains Region. Beijing: Science Press. [陈宜瑜. 1998. 断山区鱼类. 北京: 科学出版社.]

Chu XL, Chen YR. 1989. The Fishes of Yunnan, China, Part II, Cyprinidae. Beijing: Sciences Press. [褚新洛, 陈银瑞. 1989. 云南鱼类志·下册. 北京: 科学出版社.]

Deng HT, Yue XJ, Chen DQ, Tian HW, Liu SP. 2010. Growth characteristics and feed habit of *Triplophysa stenura* in Nujiang River. *Freshwater Fisheries,* **40**(1): 26-33. [邓华堂, 岳兴建, 陈大庆, 田辉伍,

刘绍平. 2010. 怒江细尾高原鳅生长特征与食性. 淡水渔业, **40**(1): 26-33.]

Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources,* **10**(3): 564-567.

Fu Q, Zhou W, Li FL, Bai B. 2008. Fish of Tianchi nature reserve and its neighborhood in Yunlong, Yunnan Province. *Sichuan Journal of Zoology,* **27**(2): 167-171. [付蕾, 周伟, 李凤莲, 白冰. 2008. 云南云龙天池自然保护区及邻近地区鱼类. 四川动物, **27**(2): 167-171.]

Gu JH, Zhang E. 2012. *Homatula laxiclathra* (Teleostei: Balitoridae), a new species of nemacheiline loach from the Yellow River drainage in Shaanxi Province, Northern China. *Environmental Biology of Fishes,* **94**(4): 591-599.

Guo ZQ. 2009. Study on Biology and Heredity of *Paracobitis variegatus* in Daning River. Master's thesis. Huazhong Agricultural University. [郭志强. 2009. 大宁河红尾副鳅生物学及遗传特征分析. 硕士学位论文, 华中农业大学.]

Guo ZQ, Liu SP, Duan XB, Yue XJ, Wang K, Chen DQ. 2008. The age and growth of Paracobitis variegates in Daning River. *Freshwater Fisheries,* **38**(6): 14-18. [郭志强, 刘绍平, 段辛斌, 岳兴建, 王珂, 陈大庆. 2008. 大宁河红尾副鳅年龄与生长的研究. 淡水渔业, **38**(6): 14-18.]

Hu YT, Zhang E. 2010. *Homatula pycnolepis*, a new species of nemacheiline loach from the upper Mekong drainage, South China (Teleostei: Balitoridae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters,* **21**(1): 51-62.

Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics,* **25**(11): 1451-1452.

Mccauley DE. 1991. Genetic consequences of local population extinction and recolonization. *Trends in Ecology and Evolution,* **6**(1): 5-8.

Min R, Chen XY, Yang JX, Winterbottom R. 2012. Phylogenetic relationships of loaches of the genus homatula (Balitoridae: Nemacheilinae), with special reference to the phylogeographic history around Yunnan-Guizhou Plateau. *Zootaxa,* **3586**: 78-94.

Si CL, Zhang Q, Huang XY, Ma B, Yue XL. 2012. Genetic diversity of Salanx curvieri in South China inferred from mtDNA cytb sequences. *Marine Fisheries,* 34(1): 1-6. [司从利, 章群, 黄小彧, 马奔, 乐小亮. 2012. 基于细胞色素基因序列分析的华南居氏银鱼遗传多样性研究. 海洋渔业, 34(1): 1-6.]

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution,* **28**(10): 2731-2739.

Tao C. 2009. Genetic Divergence of a River Loach *Triplophysa bleekeri* (Teleostei, Cypriniformes, Balitoridae) Inferred from Mitochondrial DNA Cytochrome b Ggene and Control Region. Master's thesis. Southwest University. [陶聪. 2009. 贝氏高原鳅线粒体 Cytochrome b 和 Control region 序列的遗传分化研究. 硕士学位论文, 西南大学.]

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The CLUSTAL X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research,* **25**(24): 4876-4882.

Xiao W, Zhang Y, Liu H. 2001. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): Taxonomy, biogeography, and co-evolution of a special group restricted in East Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **18**(2): 163-173.

Yang C, Shen ZX, Wang GJ, Chao Y, Qi QL. 2011. Study on genetic diversity of Triplophysa pseudoscleroptera based on cyt b gene sequence. *Journal of Anhui Agricultural Science,* **39**(25): 15395-1539. [杨成, 申志新, 王国杰, 晁燕, 祁得林. 2011. 基于cyt b基因序列的拟硬刺高原鳅遗传多样性研究. 安徽农业科学, **39**(25): 15395-15396.]

Yue XJ, Wang DQ, Liu SP, Yuan XP, Zhang YG, Duan XB, Chen DQ. 2010. Population genetic structure of three schizothoracins from Nujiang River in Southwestern China. *Acta Ecologica Sinica,* **30**(23): 6418-6429. [岳兴建, 汪登强, 刘绍平, 袁希平, 张耀光, 段辛斌, 陈大庆. 2010. 怒江三种裂腹鱼属鱼类种群遗传结构. 生态学报, **30**(23): 6418-6429.]

Zhou W, He JC. 1993. Paracobitis distributed in Erhai area, Yunnan, China (Pisces: Cobitidae). *Zoological Research,* **14**(1): 5-9. [周伟, 何纪昌. 1993. 洱海地区的副鳅属鱼类. 动物学研究, **14**(1): 5-9.]

Zhou ZY, Yan TM, Ma HD. 2007. The preliminary study on the biology of paracobitis variegates. *Journal of Sichuan Agricultural University,* **25**(3): 352-356. [周中艳, 严太明, 马恒东. 2007. 红尾副鳅生物学初步研究. 四川农业大学学报, **25**(3): 352-356.]

Zhu SQ. 1989. The Loaches of the Subfamily Nemacheilinae in China. Nanjing: Jiangsu Publishing House of Science and Technology, 31-38. [朱松泉. 1989. 中国条鳅志. 南京: 江苏科学技术出版社, 31-38.]